UNIVERSITÉ PAUL SABATIER TOULOUSE III

UNITÉS MÉDICALES

Année 1971 Numéro 19

LA RAGOCYTOSE SYNOVIALE

ETUDES EN MICROSCOPIE ORDINAIRE

ETUDES PAR IMMUNO-FLUORESCENCE ET MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

PREMIERES CONCLUSIONS

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée par

JACQUES DEBROCK
Ancien Externe des Hôpitaux

MEMBRES DU JURY

MM. J. PLANQUES .... *Président*

J. ARLET ... . *Assesseurs*
J. DUCOS ....
A. FOURNIÉ . ...

1971

UNIVERSITÉ PAUL SABATIER TOULOUSE III

UNITÉS MÉDICALES

Année 1971 Numéro 19

LA RAGOCYTOSE SYNOVIALE

ETUDES EN MICROSCOPIE ORDINAIRE

ETUDES PAR IMMUNO-FLUORESCENCE ET MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

PREMIERES CONCLUSIONS

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée par

JACQUES DEBROCK
Ancien Externe des Hôpitaux

MEMBRES DU JURY

MM. J. PLANQUES .... *Président*

J. ARLET ....
J. DUCOS .... *Assesseurs*
A. FOURNIÉ ....

1971

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE PAUL SABATIER

11, route de Narbonne

31 - TOULOUSE

TABLEAU DU PERSONNEL

UNITES MEDICALES

Président de l'Université : Monsieur LARENG

1er Vice-Président : Monsieur MATHIS

Directeur de l'Unité des Sciences Médicales TOULOUSE-PURPAN : Monsieur MONNIER

Directeur de l'Unité des Sciences Médicales TOULOUSE-RANGUEIL: Monsieur ENJALBERT

Doyens honoraires : MM. LAZORTHES, GORSE, CALVET, BRUSTIER

Professeurs honoraires : MM. VALLOIS, TAPIE, DELAS, RISER, BUGNARD, VINCENT, MOREL, BOUISSET, CALMETTES, THOMAS, LAGROT, DULUCQ .

- Clinique Médicale et Cardiologie	MM. DARDENNE
- Clinique Médicale Sud	GADRAT
- Clinique Chirurgicale	FICAT
- Clinique Chirurgicale A et Gynécologie	POULHES
- Clinique Chirurgicale B et du Cancer	GRIMOUD
- Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	PASQUIE
- Clinique Chirurgicale orthopédique et traumatologique	RIEUNAU
- Clinique de Chirurgie cardio-vasculaire	ENJALBERT
- Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	BAZEX
- Clinique des maladies des voies urinaires	LHEZ
- Clinique des maladies infectieuses	ARMENGAUD Max.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543907_0012

- Clinique médicale infantile et puériculture	MM.	SOREL
- Clinique médicale de la première enfance		BARDIER
- Clinique de neuro-chirurgie		LAZORTHES G.
- Clinique neurologique et psychiatrique		GERAUD
- Clinique obstétricale		PONTONNIER
- Clinique odonto-stomatologique		CADENAT
- Clinique ophtalmologique		N...
- Clinique O.R.L. et chirurgie maxillo-faciale		CALVET
- Clinique de pneumo-phtisiologie		DELAUDE
- Clinique rhumatologique		RUFFIE René
- Accouchement et obstétricie sociale		MONROZIES
- Anatomie		BASTIDE
- Anatomie pathologique		FABRE Jacques
- Anesthésie et Réanimation		LARENG Louis
- Bactériologie et Virologie	Mme	ENJALBERT
- Biophysique médicale A	MM.	AUVERGNAT
- Biophysique médicale B		BRU
- Chimie biologique		VALDIGUIE Paul
- Electro radiologie		MARQUES
- Embryologie générale		BROUSSY Jean
- Hématologie		RUFFIE Jacques
- Histologie		BIMES
- Hydrologie, Thérapeutique et Climatologie		N...
- Cardiologie clinique et expérimentale		N...
- Hygiène et médecine sociale		MONNIER
- Immunologie		DUCOS
- Médecine légale et médecine du travail		PLANQUES
- Pathologie chirurgicale		DAMBRIN
- Pathologie générale et médecine expérimentale		SENDRAIL
- Pathologie médicale		RIBAUT
- Physiologie		LAPORTE Yves
- Physiologie appliquée et pharmacologie		BAISSET
- Séminologie et clinique médicale		LAPORTE Jacques
- Thérapeutique		DARNAUD

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

- Histologie et Embryologie	MM.	GUILHEM
- Anatomie pathologique		BOUISSOU
- Biochimie médicale		DOUSTE-BLA..Y
- Histologie et Embryologie		PLANEL
- Oto-rhino-Laryngologie		CLAUX
- Pathologie Médicale		BOULARD
- Physiologie		MONTASTRUC
- Physiologie		BESSOU
- Physique médicale		COMMANAY
- Pneumo-phtisiologie		MIGUERES

PROFESSEURS SANS CHAIRE

- Anatomie pathologique	MM.	FABRE Jean
- Bactériologie, parasitologie, viralogie	Mme	LARENG M.B.
- Biochimie médicale		VALDIGUIE Pierre
- Chirurgie générale		GEDEON
- Chirurgie générale		SARRASIN
- chirurgie thoracique et cardio-vasculaire		ESCHAPASSE
- Electro-radiologie		PONS
- Electro-radiologie		ROULLEAU
- Médecine générale et thérapeutique		BOLLINELLI
- Ophtalmologie		DEODATI
- Pédiatrie		DALOUS
- Neuro-chirurgie		ESPAGNO Jacques
- Médecine générale et thérapeutique		SUC
- Pédiatrie		REGNIER
- Médecine générale		RIBET

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

- Carcinologie	MM. ESTRADE
- Médecine générale et thérapeutique	BES
- Pathologie expérimentale	GLEIZES
- Médecine générale	ARLET Jacques
- Dermatologie, Vénérologie	DUPRE
- Thérapeutique	DENARD
- Physiologie	GERAL J. Pierre
- Cardiologie	BOUNHOURE
- Thérapeutique, Réanimation médicale, Rééducation fonctionnelle et Hydrologie	SALVADOR M.
- Radiologie	COMBES Pierre
- Pneumo-phtisiologie	ALBAREDE J.L.
- Pédiatrie génétique médicale	ROCHICCIOLI P.
- Chirurgie générale	ESCAT Jean
- Chirurgie générale	COSTAGLIOLA
- Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie plastique et reconstructive	UTHEZA Guy
- Urologie	PONTONNIER F.
- Histologie, Embryologie, Cytogénétique	SOLEILHAVOUP
- Biophysique	GUIRAUD Robert
- Physiologie	PAGES Bernard
- Parasitologie	LARROUY
- Immunologie, Hématologie, Maladies du sang	BIERME Robert
- Anatomie et organogénèse	JUSKIEWENSKI S.
- Médecine interne	FEDOU Robert
- Médecine générale	RASCOL

AGREGES

- Médecine générale	MM. CALAZEL
- Médecine générale	LE TALLEC
- Chirurgie générale	GAUBERT
- Médecine légale	GREZES-RUEFF
- Neurologie et phychiatrie	GAYRAL
- Ophtalmologie	BEC

AGREGES - LIBRES

- Chirurgie générale	MM. SOUQUET
- Pathologie chirurgicale	DIEULAFE
- Obstétrique	ESPAGNO G.

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

- Psychiatrie	M. LABOCARIE

Secrétaire Général de l'Université : Monsieur PRINEAU J.P.

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats (délibération en date du 12 mai 1891).

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE JURY

Monsieur le Professeur J. PLANQUES
Professeur de Médecine Légale et de Médecine du Travail
Médecin des Hôpitaux
Chevalier de la Légion d'Honneur

Nous avons eu le grand honneur d'être votre élève dans votre service. La valeur exceptionnelle de votre enseignement, la richesse de votre expérience et votre bienveillance à l'égard de tous nous ont profondément marqué.

Soyez assuré de notre très respectueux attachement et de notre profonde admiration.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur J. ARLET
Médecin des Hôpitaux
Maître de Conférences Aggrégé

Vous nous avez fait le grand honneur de vous intéresser à nous et de nous prendre comme élève. L'étendue exceptionnelle de votre expérience, la richesse profonde de votre enseignement, l'intérêt inépuisable et stimulant que vous portez à tout ce qui touche la Médecine et plus particulièrement la Rhumatologie nous ont profondément marqué.
Vous nous avez tout appris.

Veuillez voir dans ce travail,que vous nous avez inspiré, l'expression de notre profonde gratitude et de notre très respectueux attachement.

Monsieur le Professeur A. FOURNIE
Médecin des Hôpitaux
Maître de Conférences aggrégé

Vous nous avez toujours accueilli avec la plus grande bienveillance. La valeur et la clarté de votre enseignement la compréhension dont vous faites preuve envers tous nous ont beaucoup aidé.

Nous sommes très honoré de vous avoir pour juge et vous assurons de notre respectueuse admiration.

Monsieur le Professeur J. DUCOS
Professeur d'Immunologie
Biologiste des Hôpitaux - chef de service
Directeur adjoint du Centre Régional de Transfusion sanguine, d'Hématologie et de Génétique humaine.

Vous nous avez fait le grand honneur de siéger à ce jury après nous avoir fait bénéficier de vos précieux conseils.

Soyez assuré de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A TOUS NOS MAITRES ET SPECIALEMENT

Monsieur le Professeur R. RUFFIE
Professeur de la clinique Rhumatologique
Médecin des Hôpitaux

Vous nous avez toujours accueilli avec la plus grande bienveillance et vous avez su nous faire profiter de l'étendue de votre expérience. Nous avons eu le grand honneur de compter parmi vos élèves.

Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde admiration.

Monsieur le Professeur P. FICAT
Professeur de linique Chirurgicale
Chirurgien des Hôpitaux

Votre conception large de la chirurgie orthopédique, votre enthousiasme et votre enseignement amical et clair nous ont beaucoup appris.

Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueux attachement.

NOUS TENONS A REMERCIER EGALEMENT

Monsieur le Docteur E. OHAYON
Assistant au Centre de Transfusion

Vous avez accepté de nous laisser travailler dans votre laboratoire et vous nous avez fait bénéficier de vos connaissances. Nous tenons à vous remercier pour votre collaboration.

Soyez assuré de notre estime et gratitude.

Monsieur le Docteur J. MOLE
Rhumatologue,
Méde in attaché des Hôpitaux

Votre grande expérience de la Rhumatologie nous a profondément marqué. Votre aide et votre amitié qui ne se sont jamais démenties nous ont apporté un précieux réconfort. Soyez assuré de toute notre reconnaissance et de notre sincère amitié.

Monsieur le Docteur H. AMIGUES
Chef de Clinique - Service de Clinique Rhumatologique du Professeur RUFFIE

Nous tenons à vous remercier pour votre collaboration. Soyez assuré de notre estime et amitié.

et tous nos maîtres de la clinique Pasteur.

A ma femme

A mes parents et beaux parents

Avec toute ma tendresse et ma gratitude

A ma famille

A mes amis

L A   R A G O C Y T O S E   S Y N O V I A L E

Etudes en microscopie ordinaire

Etudes par immunofluorescence et
microscopie électronique

Premières conclusions

PLAN

INTRODUCTION — Rappel historique

CHAPITRE I — Description microscopie optique

1)- Description

2)- Technique de recherche

CHAPITRE II — Signification clinique

CHAPITRE III — Que sont ces inclusions ?

I - origine des différents travaux : hypothèse de travail de HOLLANDER

II - Etudes in vitro : reproduction expérimentale de la ragocytose

III - Etudes in vivo

1)- déclenchement d'une arthrite aiguë par injection de corps étrangers chez l'animal ;

2)- chez l'homme.

IV - Etudes immuno-fluorescentes

1)- méthodes et techniques

2)- observations personnelles et conclusions

3)- étude bibliographique

. recherche des inclusions dans diverses maladies

. morphologie des inclusions

. rapport inclusions fluorescentes-sphérules ragocytaires

V - Etudes cytochimiques

VI - Etudes en microscopie électronique

VII - Conclusions partielles

CHAPITRE IV — Que faut-il en conclure ? Essai pathogénique

.../

CHAPITRE V — Place de la ragocytose dans l'examen d'un liquide articulaire.

CONCLUSION GENERALE

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Rappel historique

L'étude du liquide synovial a depuis très longtemps intéressé les médecins en général et les chercheurs en particulier ; c'est à ROPES et BAUER que nous devons les premières études complètes sur la cytologie et la biochimie du liquide synovial : à partir de ce moment-là l'on a divisé les liquides articulaires en trois catégories :

- inflammatoire
- mécanique
- mixte

1°- mécanique : avec liquide visqueux jaune clair, contenant moins de cinq cent cellules par millimètre cube ; la formule étant formée moitié par des polynucléaires, moitié par des mononucléaires (lymphocytes), ou plus souvent par une prédominance de mononucléaires.

Les protides y sont à un taux de 20 à 40 g/litre ;

2°- inflammatoire : trouble, louche, fluide avec une hypercytose (plus de 3000 éléments nucléaires), prédominance de polynucléaires neutrophiles, un chiffre élevé de protides (45 - 60 g/litre), parfois présence de germes ;

3°- mixte : soit parce qu'il contient des éléments de l'un et l'autre des chapitres précédents, soit parce que la macroscopie est en contradiction avec la microscopie.

Par la suite, MAC CARTY et HOLLANDER ont découvert,les premiers, la présence de certains cristaux dans les cellules leucocytaires et à l'extérieur de ces cellules, dans la goutte et la chondro- calcinose.

Enfin, à partir de 1963, HOLLANDER d'abord, DELBARRE ensuite, ont noté la présence dans certaines cellules leucocytaires

de liquide rhumatoïde de grosses inclusions spéciales : ces cellules furent dénommées "RA Cell" par HOLLANDER et Ragocytes par DELBARRE.

Cette découverte a soulevé un grand intérêt pour la compréhension et le diagnostic de la maladie rhumatoïde.

CHAPITRE I

DESCRIPTION EN MICROSCOPIE OPTIQUE

A - DESCRIPTION

1)- C'est donc HOLLANDER (8), qui, le premier, décrit dans des leucocytes synoviaux de malades ayant une polyarthrite rhumatoïde, des inclusions cytoplasmiques particulières. Ces inclusions sont surtout visibles en microscopie à contraste de phase.

Elles sont au nombre de une à vingt. En lumière ordinaire, il s'agit de granules denses, noirâtres, de diamètre compris entre 0,5 micron et 1,5 micron.

Ces cellules particulières sont alors dénommées par cet auteur sous le terme de "RA Cell".

2)- Vers la même époque, DELBARRE (5) décrit ces mêmes inclusions dans les liquides articulaires de polyarthrite rhumatoïde : dans ses études, il trouve en effet des masses arrondies intra-leucocytaires, bien limitées dont la couleur va de celle du raisin blanc à celle du raisin noir selon la mise au point. Les sphérules ont généralement une teinte verdâtre ; leur nombre et leur taille varient de 0,5 à 1 micron ; elles sont disposées irrégulièrement dans le protoplasme ou réparties à sa périphérie en couronne. Elles peuvent être plus volumineuses atteignant deux à trois microns ; l'ensemble peut alors occuper tout le cytoplasme de la cellule qui prend un aspect mûriforme.

D'une manière générale, ces sphérules sont faciles à distinguer des granulations normales des polynucléaires qui sont peu visibles dans les conditions de l'expérience.

Quelquefois, ces "grains de raisins" peuvent être expulsés car on peut trouver des granulations verdâtres libres entre les leucocytes qu'ils soient normaux ou non.

Ces cellules ont été appelées par DELBARRE : ragocytes en raison de leur aspect en grappe de raisin ;

3)- ASTORGA et BOLLET (2), un peu après, ont confirmé ces découvertes en montrant chez soixante dix malades atteints de polyarthrite rhumatoïde, dans tous les cas des inclusions leucocytaires qui, en microscopie en lumière ordinaire, sont constituées de granules sombres surmontées d'un halo, qui ressemblent à une vacuole, en microscopie en contraste de phase sont constituées de zones claires pâles.

Ce qu'il faut noter, c'est qu'il n'y a pas que des leucocytes qui contiennent de telles inclusions. HOLLANDER et DELBARRE ont en effet constaté de telles granulations dans le cytoplasme de volumineux mononucléaires et de volumineux macrophages.

4)- En pratique, la technique de recherche en est simple (5) : le liquide synovial est prélevé par ponction articulaire selon les méthodes habituelles d'asepsie rigoureuse ; il est recueilli sur flacon hépariné ou dans une fiole d'Erlen Meyer avec des billes de verre où il sera agité immédiatement pendant quelques minutes. On compte 0,5 millilitres d'héparine pour dix à vingt millilitres de liquide. Le liquide est alors centrifugé cinq minutes à 3000 tours/minute; Une goutte du culot de centrifugation est examinée ensuite entre lame et lamelle lutées à la paraffine.

L'examen se fait au microscope ordonaire avec l'objectif à immersion au grossissement 1200.

C H A P I T R E   II

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le premier problème qui se pose est celui de savoir si les ragocytes découverts parmi les leucocytes du liquide articulaire de polyarthrite rhumatoïde sont spécifiques de la maladie.

1)- ASTORGA et BOLLET en 1965, ont trouvé (2) :

- chez 70 malades atteints de Polyarthrite rhumatoïde, de telles inclusions intra-leucocytaires dans tous les cas, la proportion de cellules d'unmmême liquide articulaire, contenant ces inclusions, variant de 3 à 56 %.

- chez 71 malades atteints d'autres maladies que la polyarthrite rhumatoïde :

. 57 sans inclusions
. 14 avec inclusions.

Voici d'ailleurs un tableau résumant leur étude: (tableau I)

Tableau I :

	Nombre de cas	Nombre de cas avec Inclusions
ARTHROSE	31	2
ARTHRITE TRAUMATIQUE	17	2
GOUTTE	6	1
ARTHRITE INFECTIEUSE	5	2
F L R	3	2
ARTHRITE avec "Cellules" en "Faucille"	2	1
R A A	2	2
S p A	1	1
L E D	1	1
AUTRES	3	0

2)- HOLLANDER et Collaborateur (8) retrouvent ces ragocytes dans la plupart des liquides synoviaux de la polyarthrite rhumatoïde (95 % environ) avec une positivité d'inclusions cellulaires dans 3 à 97 % des cellules.

3)- DELBARRE, AMOR, KAHAN et KRASSININE (5) trouvent

. dans 53 maladies rhumatoïdes avérées, 51 cas avec ragocytes soit 96 % ;

. dans 20 polyarthrites chroniques inflammatoires type polyarthrite rhumatoïde sans certitude absolue 8 cas avec ragocytose soit 40 % ;

. dans 33 arthrites et polyarthrites non rhumatoïdes dont une goutte et huit chondro-calcinose, 3 cas avec ragocytose soit 9 % ;

. dans 14 syndromes de Reiter, 8 cas avec ragocytose soit 57 % ;

. dans 2 rhumatismes psoriasiques, 2 cas positifs ;

. dans 2 pelvo-spondylites rhumatismales aucune ne présentait de ragocytes ;

. dans 47 arthroses, un seul cas était positif, soit 2 % environ.

4)- BLOCH-MICHEL, BENOIST, RIPAULT, BINET (4) ont retrouvé :

. dans 17 maladies rhumatoïdes certaines, 14 cas avec ragocytose soit 82 % ;

. dans 14 maladies rhumatoïdes encore incertaines, 7 cas de ragocytose soit 50 % ;

Donc, sur 31 maladies rhumatoïdes probables, 21 cas avec ragocytose (67 %). La ragocytose étant positive dans

- 8 formes séro positives sur 11
- 12 formes séro-négatives sur 18

. par ailleurs, chez 21 malades témoins (arthroses et hydarthroses mécaniques et deux chondro-calcinoses) la ragocytose n'est retrouvée que dans un cas d'hydarthrose par ostéochondromatose ;

. dans 4 polyarthrites inflammatoires non rhumatoïdes, 3 cas ont révélé une ragocytose :

- un Fiessinger Leroy Reiter sur deux
- un syndrome de Behcet
- un rhumatisme articulaire aigu

. la ragocytose a été également retrouvée dans un cas de goutte avec présence de facteur rhumatoïde dans le plasma.

Pour ces auteurs, l'étude numérique des cellules à inclusions est apparue utile :

- dans les liquides arthrosiques, mécaniques ou de polyarthrites inflammatoires non rhumatoïdes, la ragocytose, lorsqu'elle existe, demeure toujours faible inférieure ou égale à 5 % de la totalité des cellules ;

- dans 14 des 21 maladies rhumatoïdes avec ragocytose, le pourcentage des cellules à inclusions est supérieur à 30 %.

5)- WILKENS et HEALY trouvent des ragocytes dans 32 cas sur 59 polyarthrites rhumatoïdes, 18 cas sur 37 maladies comprenant : syndrome de Reiter, rhumatisme psoriasique, lupus érythémateux disséminé et spondylarthrite ankylosante.

6)- SONES, MAC DUFFIE, HUNDER (20) trouvent sur

. 41 cas de polyarthrite rhumatoïde des cellules à inclusions dans 31 cas ;

. dans 19 autres rhumatismes inflammatoires, une ragocytose dans 10 cas ;

. dans 12 cas d'épanchement non inflammatoire, un seul cas de ragocytose.

7)- Enfin, en Allemagne, HEMMER et GAMP (7), après avoir repris les données de la littérature donnent leurs résultats sur un nombre important de cas : (tableau II)

Tableau II :

	Nombre de cas	RAGOCYTOSE Positive	Négative
P. R. Séro-positive	55	44	11
P.R. Séro-négative	10	7	3
P. R. infantile	4	1	3
L. E. D.	1	0	1
Rh. Psoriasique	3	1	2
S. P. A.	9	5	4
REITER	1	0	1
Arthrite	14	8	6
Goutte	6	0	6
Arthrose	18	1	17

Les auteurs considèrent un taux de ragocytes inférieur à 10 % comme négatif.

Que faut-il en conclure ?

Pour DELBARRE (5), les ragocytes existent presque uniquement dans les rhumatismes inflammatoires et essentiellement dans la maladie rhumatoïde. En outre, pour lui, toutes les polyarthrites séro-positives ont des ragocytes alors que cela n'est vrai que pour 90 % des polyarthrites séro-négatives. Cette fréquence s'oppose au caractère exceptionnel de la ragocytose dans les rhumatismes dégénératifs et même dans les rhumatismes inflammatoires non rhumatoï-

des exception faite pour le syndrome de Fiessinger Leroy Reiter et le rhumatisme psoriasique. Enfin, elle peut s'observer au cours de certaines connectivites. D'autre part, la découverte de ragocytes pourrait aider au diagnostic de certaines formes mono ou oligo-articulaires de polyarthrite rhumatoïde avec réactions sérologiques encore négatives.

SONES (20) estime, lui, que la découverte de ragocytes n'a pas de valeur dans le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde au début ou de la polyarthrite séro-négative, par manque de spécificité.

Par ailleurs, le pourcentage des ragocytes est important à connaître et BLOCH-MICHEL (4) y insiste, nous l'avons vu :dans la polyarthrite rhumatoïde le pourcentage, par rapport à la totalité des leucocytes synoviaux, est supérieur à 30 % souvent alors que dans les autres maladies il reste inférieur ou égal à 5 %.

Par contre, HEMMER et GAMP (7) estiment qu'un taux de ragocytes inférieur à 10 % doit être considéré comme négatif. Enfin, pour DELBARRE, le phénomène est significatif quand le taux est supérieur à 5 %.

Quant à la numération des inclusions elles-mêmes, il n'y a pas eu de travaux spéciaux à ce sujet, bien que BLOCH MICHEL prétende que leur nombre est plus élevé dans les liquides rhumatoïdes et d'autant plus que l'inflammation est plus ancienne et plus importante.

	ASTORGA et BOLLET	DELBARRE	BLOCH-MICHEL	WILKENS et HEALY	SONES	HEMMER et GAMP	TOTAUX
Polyarthrite rhumatoïde	70	51 sur 53	14 sur 17	52	31	42	275
Polyarthrite presque sûre	sur 70	8 sur 20	7 sur 14	sur 59	sur 41	sur 59	sur 333
F. L. R.	2 sur 3	8 sur 14				0 sur 1	
Rh.Psoriasique		2 sur 2				1 sur 3	
Sp A	1 sur 1	0 sur 2	4 sur	18	10	5 sur 9	61 sur
Behcet			5	sur 37	sur 19		178
Goutte	1 sur 6	3 sur				0 sur 5	
R. A. A.	2 sur 2	33					
L. E. D.	1 sur 1					0 sur 1	
Arthrite Infectieuse	2 sur 5					8 sur 14	10 sur 19
Arthrite traumatique	2 sur 17						2 sur 17
Arthrose	2 sur 31	1 sur 47	1 sur 21		1 sur 12	1 sur 18	6 sur 129

Tableau III POSITIVITE DE LA RAGOCYTOSE

Tableau IV

	Nombre de cas	Ragocytose positive	Pourcentage
P. R.	333	275	82 %
Autres Arthrites Inflammatoires	178	61	34 %
Arthrites infectieuses	19	10	52 %
Arthroses	129	6	4 %

Tableau V

Polyarthrites rhumatoïdes	Nombre de cas	Ragocytose positive	Pourcentage
séro-positives	66	51	80 %
séro-négatives	28	19	67 %

Le tableau V s'oppose un peu à l'opinion de DELBARRE qui estime que 90 % des polyarthrites séro-négatives et 100 % des polyarthrites séro-positives ont une ragocytose.

Pour résumer toutes ces études :

Il semble bien évident (Tab. III. IV) que la ragocytose se retrouve dans presque toutes les polyarthrites rhumatoïdes (80 % environ) ce qui contraste avec la pauvreté de leur découverte dans les rhumatismes dégénératifs (4 %). D'ailleurs, dans ces rhumatismes dégénératifs, leur pourcentage par rapport à la quantité de leucocytes synoviaux est faible (inférieur à 5 %) tandis que dans la polyarthrite rhumatoïde, il est élevé (supérieur à 30 % bien souvent).

Quant aux autres polyarthrites ou oligoarthrites inflammatoires, la discussion est plus délicate puisqu'on retrouve ces ragocytes dans 34 % des cas environ ; on les retrouve surtout dans le syndrome de Fiessinger Leroy Reiter (50 % des cas) et à un moindre degré dans le rhumatisme psoriasique et peut-être la spondylarthrite ankylosante.

On les retrouve enfin dans plusieurs arthrites infectieuses mais le nombre total de ces arthrites étudiées est faible et il manque une étude précise sur la numération des cellules à inclusinns.

L'on peut donc dire que la découverte de ragocytes dans un liquide articulaire, en dehors d'un processus infectieux aigu où l'on pense en général à faire une étude bactériologique

1°- élimine à peu près sûrement un rhumatisme dégénératif de même qu'une arthropathie micro-cristalline ;

2°- fait penser à un rhumatisme inflammatoire et particulièrement la polyarthrite rhumatoïde ;

3°- ne permet pas d'éliminer un processus infectieux lorsque le germe est difficile à rechercher et en particulier la tuberculose.

Le ragocyte n'a donc pas de valeur spécifique. C'est

le terme de "ragocytes" à celui de "RA Cell" de HOLLANDER qui se voudrait plus spécifique.

C H A P I T R E III

QUE SONT CES INCLUSIONS ?

I - Base des différents travaux : Hypothèse de travail de HOLLANDER

HOLLANDER et Collaborateurs (8) ont étudié des liquides articulaires de polyarthrite rhumatoïde ; après avoir recherché les ragocytes, ils ont cherché à détecter le facteur rhumatoïde par les réactions au latex globuline dans le sang et le liquide articulaire ; ils ont ensuite "cassé" les cellules à inclusions par traitements aux ultrasons et ont cherché à nouveau la présence de facteur rhumatoïde dans le produit de rupture des cellules, dans le liquide surnageant de lavage et dans le sédiment cellulaire resté intact.

1)- dans les cas de polyarthrite rhumatoïde classique, avec présence de facteur rhumatoïde dans le sérum et le liquide articulaire, la présence de ce facteur rhumatoïde a pu être démontrée dans le produit de rupture des cellules alors qu'il était absent:

- du sédiment cellulaire avec cellules intactes
- du liquide surnageant de lavage.

La réaction au latex globuline était alorspositive à des taux de 1/40 e à 1/160 e, grossièrement proportionnelle au nombre de cellules à inclusions et non aux titres du latex dans le sang ou le liquide.

2)- même dans certains cas, la réaction au latex globuline a pu être positive après un tel traitement des éléments figurés du liquide de ponction articulaire, alors qu'auparavant il n'avait pas été possible de déceler la présence du facteur rhumatoïde dans le sérum ni dans le liquide articulaire.

Par la suite d'ailleurs, les deux malades répondant à ce cas ont développé un tableau complet de polyarthrite rhumatoïde typique.

C'est à la suite de ces travaux que HOLLANDER et Collaborateurs ont bati leur hypothèse : le facteur rhumatoïde est un anticorps macro-globulinique (gamma M) dirigé contre un déterminant antigénique situé dans la molécule des gamma-globulines (7 S ou gamma G) et normalement inaccessible dans les molécules intactes.

Par contre, il est exposé dans deux circonstances :

. lorsque ces gamma G globulines ayant une fonction anticorps se fixent sur l'antigène correspondant ;

. lorsqu'on provoque des modifications de leur structure par la chaleur, le froid, des traitements enzymatiques ou lorsqu'elles s'aggrègent entre elles.

L'association facteur rhumatoïde et gamma-globulines modifiées et aggrégées, réalise un complexe antigène-anticorps, complexe 22 S facilement réversible, qui se déposerait dans l'articulation comme une particule ; or on sait que les gammaglobulines sont élaborées par les plasmocytes et les cellules voisines ; par ailleurs, MELLORS a montré que le facteur rhumatoïde est probablement formé dans les plasmocytes ; ces plasmocytes sont des cellules qui prédominent dans le tissu synovial de la polyarthrite rhumatoïde.

Ainsi le tissu synovial paraît-il être la source des matériaux formant le complexe (facteur rhumatoïde - gammaglobulines aggrégées).

Si des particules de ce complexe sont déposées près de la surface de la synoviale, elles peuvent fixer le complément, ce qui entraîne, accessoirement une baisse du complément dans le liquide, et surtout le passage en grand nombre de leucocytes polynucléaires des vaisseaux vers l'articulation.

La phagocytose des particules par les neutrophiles entraînerait la dégénérescence leucocytaire et la libération des

lysozomes d'où attaque des tissus articulaires. Ces cellules avec leur particules phagocytées, pourraient être les "RA Cells".

A partir de cette idée, de nombreux travaux ont été effectués afin de voir si, réellement, ces inclusions contenaient ces globulines et antiglobulines et si elles ne contenaient que ces substances.

C'est ainsi qu'on débuté les

- études in vivo et in vitro
- études immunofluorescentes
- études cytochimiques
- études par la microscopie électronique.

Avant d'entamer ce chapitre, il convient de dire que si ASTORGA et BOLLET (2) ont en gros confirmé les études de HOLLANDER par contre, DELBARRE et collaborateurs (5), sur des ragocytes de plus de 60 liquides de polyarthrite rhumatoïde n'ont jamais pu recueillir de fraction donnant une réaction de Waaler Rose ou de Singer Plotz (latex globuline) positive.

II - <u>Etudes in vitro</u> : reproduction expérimentale de la ragocytose.

1)- ASTORGA et BOLLET (2), après avoir décrit ces mêmes ragocytes ont constaté la présence de facteur rhumatoïde dans les homogénats des cellules contenant les inclusions et ont trouvé après traitement par le MERCAPTO-ETHANOL une baisse marquée de son titre.

Par ailleurs, in vitro, la phagocytose des précipités de (facteur rhumatoïde - gammaglobulines) par des leucocytes entraîne une activation des enzymes lysozomiales, qui peut jouer un rôle dans la pathogénie de certains aspects de la polyarthrite rhumatoïde.

2)- DELBARRE et Collaborateurs (5) ont essayé de reproduire la ragocytose en mettant en contact des leucocytes isolés du sang humain avec différents produits.

. une mise en contact de produits inertes avec des leucocytes n'a pas provoqué de phénomène décelable ;

. des produits organiques divers n'ont pas donné de ragocytose;

. par contre, ils ont eu des résultats positifs en mettant au contact des leucocytes, des complexes réalisés in vitro avec un antigène et son anticorps. Par exemple, le complexe "Euglobuline-antimacroglobulines" (5), donne au bout d'une demi-heure d'incubation en excès d'antigène un phénomène de ragocytose net.

Mais la ragocytose semble un fait plus général car ces auteurs l'ont obtenue avec d'autres systèmes (gammaglobulines-antigammaglobulines, ovalbumine -antiovalbumine...), toujours avec de meilleurs résultats avec un excès d'antigène et un moins bon résultat avec un excès d'anticorps.

III - <u>Etudes in vivo</u> : Déclenchement d'une arthrite aiguë par injection de corps étrangers.

1)- <u>Chez l'animal</u>

a - DELBARRE, AMOR, KAHAN et KRASSININE (8) ont montré que l'injection chez un rat de Mycoplasma Arthriditis s'accompagne d'une réaction hydarthrodiale qui peut être ponctionnée vers le douzième jour ; l'examen direct du liquide montre des ragocytes analogues aux éléments humains.

b - La polyarhtrite à adjuvant de FREUND, réalisée avec un mélange d'adjuvant incomplet et de Mycobactérium Butyricum tué peut donner aussi une hydarthrose dans laquelle on a trouvé également des ragocytes typiques avec prédominance, ici d'éléments macrophagiques.

c - enfin, le phénomène d'ARTHUS a été réalisé chez le lapin et le cobaye par sensibilisation première au sérum de cheval (voie sous cutanée). Vingt quatre heures après l'injection intra-articulaire déclenchante, l'examen du liquide d'hydarthrose montre des ragocytes typiques dont le nombre est cependant inférieur à celui obtenu dans les expériences précédentes.

2)- Chez l'homme

RESTIFO, HOLLANDER (18) et leur collaborateurs ont en 1965 essayé de provoquer l'apparition d'une arthrite aiguë par l'injection de complexes particulaires (facteurs rhumatoïdes - gammaglobulines 7 S) avec apparition de "RA Cell".

Ils ont en réalité, injecté des gammaglobulines 7 S de plusieurs catégories :

- isolées et non isolées
- aggrégées et non aggrégées
- provenant de malades atteints de polyarthrite rhumatoïde et d'autres maladies
- autologues et homologues

dans l'articulation du genou.

Voici leurs résultats (Tableau VI) :

Tableau VI :

Donneur de gamma glob.	Receveur	Nombre malades	Nombre expériences	Réponse Inflammatoire
PR	lui-même	5	6	4 (1 fois) 3 (3 fois) 2 (1 fois) 0 (1 fois)
PR	Arthrose	4	5	0 (5 fois)
Normaux	PR	5	7	0 (6 fois) 1 (1 fois)
PR	PR Homologue	2	3	0 (3 fois)
Goutte	lui-même	1	2	0 (2 fois)

La réponse inflammatoire est graduée selon l'intensité de 0 à 4.

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de résultats.

Donc l'arthrite aiguë est réalisée en général seulement dans les cas de polyarthrite rhumatoïde et, parmi ceux-ci, seulement par l'injection de gamma globulines autologues.

Les sujets atteints d'arthrose et ceux atteints de polyarthrite rhumatoïde à qui on a injecté des gamma-globulines homologues, rhumatoïdes ou non, n'ont pas eu de réponse inflammatoire.

L'apparition de la réponse inflammatoire était rapide, entre quarante cinq minutes et deux heures, la durée de l'inflammation était variable de deux à cinq jours. La ragocytose était nette, mais surtout vingt quatre heures après l'injection,variable de 10 à 80 % des cellules.

IV - Etudes immunofluorescentes

Il s'agit d'une des méthodes les plus récentes de diagnostic et de recherche ; elle résulte de la possiblité de fixer solidement un colorant fluorescent sur des mélocules d'anticorps sans nuire à leur activité spécifique. Un antigène uni à un anticorps pourra ainsi être observé à l'examen microscopique en lumière ultra-violette grâce à ce facteur fluorescent.

Son utilisation constitue donc la conséquence logique de l'hypothèse de travail de HOLLANDER qui met en jeu des réactions antigène-anticorps.

A - Méthodes et techniques

1)- il existe deux méthodes d'immunofluorescence :

a/ méthode directe :

Il s'agit de la détection d'un antigène fixé sur lame ou dans une coupe de tissu par son anticorps spécifique combiné au fluorochrome.

b/ méthode indirecte :

La réaction se fait en deux temps :

- l'antigène fixe d'abord les anticorps spécifiques d'un sérum non marqué ;
- dans un deuxième temps, ces derniers jouent à leur tour le rôle d'antigène vis à vis d'un anti-sérum spécifique marqué : une double réaction antigène-anticorps est réalisée traduite par l'apparition de fluorescence localisée au niveau de l'antigène primitif.

L'on utilise comme fluorochrome l'Isothiocyanate de FLuoresceine.

La dernière méthode est la plus utilisée.

2)- Techniques

Nous allons exposer la technique que nous avons personnellement utilisée :

Nous avons utilisé une antigammaglobuline globale marquée par la fluoresceine produite par les laboratoires Hyland, mais nous n'avons pas, au moment où l'expérience a été faite, eu à notre disposition des antigammaglobulines spécifiques, anti gamma G et anti gamma M, ce qui enlève un peu d'intérêt à ces recherches parce que d'autres auteurs ont par la suite pu utiliser ces différentes antiglobulines.

- nous avons recueilli sur flacon hépariné des liquides de ponction articulaire ;

- nous avons ensuite centrifugé cinq fois ce liquide synovial en le lavant chaque fois ;

- nous avons ensuite mis au contact du culot de centrifugation l'antigamma globuline fluorescente pendant trente minutes;

- nous avons ensuite pratiqué un étalement sur lame, une fixation par l'alcool méthylique, et passage très rapide (quelques secondes) dans du Bleu Evans et nous avons enfin lavé ces lames pour les examiner ensuite en lumière ultra-violette.(App. WILD (Heerbrugg) M 20 - 57 355.)

C'est à peu près la même technique qu'a utilisé DELBARRE (10), à quelques variantes près.

Cette technique donne de meilleures images que celle utilisant l'examen à l'état frais du mélange culot-gamma globuline mais cette dernière a, par contre, l'avantage de permettre une comparaison facile entre les images en lumière ordinaire et à l'ultra-violet, ce que ne permet pas notre technique.

La lecture en est délicate, la fluorescence intra-cellulaire disparaissant très vite (quelques dizaines de secondes) ce qui, entre parenthèses, explique les difficultés de photographie.

B - Observations personnelles

Elles sont basées sur l'étude de seize malades. Nous allons pour chaque observation, donner un résumé rapide de la maladie au moment où l'examen du liquide a été pratiqué avant de donner le résultat de l'examen lui-même.

OBS. 1 - Madame THIE. 63 ans.

Polyarthrite rhumatoïde évoluant depuis 1951, débutant par une atteinte fluxionnaire des chevilles et des poignets. Traitée d'abord par les sels d'or et les corticoïdes, malgré cela, atteinte progressive de toutes les articulations. Hospitalisée de nombreuses fois et traitée de diverses façons : corticoïdes, antipaludéens de synthèse. En 1967, apparition d'une coxite bilatérale. En 1968, apparition d'unepleurésie rhumatoïde et œ cataracte. Elle est alors en traitement avec 2 comprimés de SOLUPRED par jour.

Premier examen du liquide articulaire (genou) en novembre 1968. Par la suite, mise aux immuno-dépresseurs CHLORAMBUCIL puis CYCLOPHOSPHAMIDE, associés à la corticothérapie avec une légère amélioration. En juillet 1969 : rupture tendineuse des deux derniers doigts de la main droite nécessitant une intervention chirurgicale. Enfin, apparition d'une subluxation cervicale Atloido-Axoidienne.

En août 1969, deuxième ponction du même genou.

Etudes immuno§fluorescentes :

- novembre 1968 : il existe une grande quantité de leucocytes dont un nombre important présente des granulations fluores centes évidentes, de pourcentage difficilement chiffrable. Parmi ces leucocytes, les polynucléaires semblent prédominer. La fluorescence se présente sous forme de fines granulations ; tantôt il s'agit d'une ou de deux granulations à un pôle ou aux deux pôles de la cellule. Tantôt ces granulations sont punctiformes, diffuses dans tout le cytoplasme, soit périnucléaires, dessinant par contraste le noyau, soit de disposition anarchique. On ne retrouve que de petites granulations ; il n'en existe aucune très volumineuse.

- août 1969 : cette fois-ci, la lame est pauvre en cellules et très peu de leucocytes parmi elles présentent des grains fluorescents, en général au nombre de deux à trois par cellule.

OBS. 2 - Madame FAG. 46 ans

Polyarthrite rhumatoïde ayant débuté à l'âge de 22 ans par une atteinte fluxionnaire polyarticulaire, traitée par les sels d'or.

En 1953, apparition des premières déformations.

En 1966, arrêt des sels d'or et mise à un traitement par corticoïdes, antipaludéens de synthèse et ASPIRINE.

En 1968, début des infiltrations dans le genou gauche.

En 1969, mise aux immuno-dépresseurs (CHLORAMBUCIL). A ce moment-là la V.S. est à 20/40, la formule et numération normale, le Waaler Rose positif à 1/64è, les anticorps anti-nucléaires négatifs.

Sur le liquide articulaire prélevé plusieurs fois :

200 éléments nucléés/mm3

28 % de lymphocytes

72 % de neutrophiles

23 g de protides

0,61 g de glucose

En juin 1969, étude immuno§fluorescente du liquide articulaire du genou gauche.

En microscopie optique, le nombre des leucocytes est modéré, quelques uns contenant de petites inclusions et certains de grosses vacuoles remplies d'un contenu rosé (rappelons que les lames sont lavées au Bleu Evans).

Avec les méthodes fluorescentes, l'on note que les grains fluorescents sont très peu nombreux et sont en général petits. Il en existe plusieurs dans les cellules qui les contiennent.

OBS. 3 - Monsieur GAN. 63 ans.

Hémochromatose ayant débuté en 1962 par l'apparition d'un rhumatisme inflammatoire des poignets, des chevilles et des benoux.

En 1968, il est hospitalisé dans un hopital de la région parisienne : l'on porte le diagnostic d'hémochromatose sur les constatations suivantes :

- hépatomégalie)
- diabète } ayant entraîné
- anémie)

une laparoscopie : l'aspect rouillé du foie et la P.B.F. emportent la conviction.

En 1969 : hospitalisé en urgence dans un service de gastro-entérologie Toulousain où l'on confirme le diagnostic.

En juillet 1969 : tuméfaction du genou gauche, coxopathie bilatérale, chondro-calcinose radiologique des deux genoux, calcification du ligament triangulaire du carpe.

Ponction du genou gauche : liquide sanglant

96 éléments nucléés

30 % de lymphocytes

70 % de polynucléaires neutrophiles

Très nombreux globules rouges (chiffres non précisés)

Waaler Rose et Latex négatifs.

L'examen par méthodes fluorescentes a montré l'absence totale de grain fluorescent sur toutes les lames.

OBS. 4 - Monsieur LEO. 71 ans.

En 1965, apparition d'un syndrome douloureux pluri-articulaire (poignets, épaules, chevilles).

Quelques mois plus tard, douleurs avec limitation des mouvements, des métacarpo-phalangiennes, des interphalangiennes proximales, des épaules et des poignets.

L'examen retrouve une hydarthrose du genou gauche et une

douleur de la hanche droite. Radiologiquement, l'on note un pincement radiocarpien gauche.

Mais les signes biologiques sont normaux et la biopsie de la synoviale du genou gauche ne confirme pas le diagnostic de polyarthrite rhumatoïde (synoviale oedémateuse avec deux enclaves marginales de cartilage nécrosé).

En décembre 1965 apparition d'un syndrome du canal carpien gauche avec fluxion d'allure inflammatoire du poignet.

En juillet 1967, guérison du syndrome du canal carpien.

Quelques mois plus tard, poussée douloureuse des deux genoux avec liquide mécanique. Radiologiquement, l'on note une gonarthrose bilatérale avec quelques corps étrangers.

En 1968, apparition d'une nécrose de la tête fémorale droite.

Gonarthrose gauche traitée par infiltrations.

Atteinte douloureuse avec limitation des épaules et du poignet gauche.

Ponction du genou novembre 1968.

Il s'agit donc d'une gonarthrose gauche nécessitant des infiltrations dans un contexte d'atteinte polyarticulaire faisant penser au début à une P.R. mais celle-ci n'a jamais pu être prouvée ni biologiquement, ni histologiquement.

Examen par immunofluorescence du liquide du genou gauche: il y a très peu de cellules et dans cette faible quantité cellulaire, il n'a pas été possible de retrouver des inclusions fluorescentes.

<u>OBS. 5</u> - Madame CUX

Polyarthrite rhumatoïde.

En 1964 : atteinte fluxionnaire des poignets traitée par antipaludéens de synthèse.

En 1967 : compression du cubital gauche dans le canal de Guyon.

Radiologiquement, carpite bilatérale.

V.S. 11/27, Waaler Rose et Latex négatifs.

Mise sous traitement par NIFLURIL.

En 1968 : atteinte fluxionnaire et douloureuse des poignets, des temporo-maxillaires et du genou gauche.

En 1969 : atteinte douloureuse des chevilles, poignets.

Epanchement ponctionné du genou gauche.

V.S. 8/21, Waaler Rose et Latex négatifs.

Dans le liquide de ponction du genou :

19 800 éléments nucléés/mm3

90 % de polynucléaires neutrophiles

10 % delymphocytes

Waaler Rose positif à 1/32è

Examen par immunofluorescence : présence de nombreuses cellules leucocytaires dont une grande partie contient des grains fluorescents : il s'agit ici, en général de gros grains, soit uniques à un pôle de la cellule, soit multiples, disséminés de façon variable.

<u>OBS. 6</u> - Madame GAR. 75 ans.

Polyarthrite rhumatoïde ayant débuté il y a dix ans. Traitée par anti-paludéens de synthèse et ASPIRINE.

En 1966 : grosse poussée évolutive. La ponction d'un liquide articulaire de cette époque a montré la présence de 2 800 leucocytes/mm3 dont 98 % de polynucléaires et 2 % de lymphocytes.

Est alors traitée par infiltrations locales.

En 1968, nouvelle poussée inflammatoire : premier examen par immunofluorescence du liquide articulaire du genou droit.

En avril 1969 : nouvel examen de ce liquide articulaire.

V.S. 15/32. Waaler Rose dans le sang positif à 1/512è.

Juin 1969, mise aux immuno-dépresseurs : CYCLOPHOSPHAMIDE.

Juillet 1969 et décembre 1969 : 3ème et 4ème examens des liquides articulaires des genoux gauche puis droit.

En octobre 1969 : V.S. 30/55.

Examen par immuno-fluorescence :

Genou droit : décembre 1968 : présence de grains fluorescents punctiformes en particulier périnucléaires au niveau de nombreux leucocytes.

avril 1969 : on retrouve un nombre assez important de leucocytes contenant des grains fluorescents, soit gros grains disséminés dans le cytoplasme soit un à deux grains uniques, soit ponctuation fluorescente de la cellule.

Genou gauche : juillet 1969 : on ne retrouve pas sur les lames de cellules contenant des grains fluorescents.

Genou droit : novembre 1969 : il y a très peu de cellules leucocytaires et celles-ci ne contiennent pas de granulations fluorescentes.

<u>OBS. 7</u> - Monsieur BER. 45 ans.

Octobre 1969 : gonalgie gauche d'apparition récente avec tuméfaction intermittente. Les douleurs sont de type mécanique. La radiographie révèle une gonarthrose surtout interne avec corps étrangers. L'affection est bilatérale et radiologiquement, prédomine à droite. La V.S. est à 6/13.

La ponction du genou ramène trente centimètres cubes d'un liquide mécanique : 48 éléments nucléés

32 g de protides

0,91 g de glucose

Pas de cristaux.

L'examen par immunofluorescence montre l'absence totale de granulations fluorescentes sur une lame très pauvre en éléments cellulaires.

<u>OBS. 8</u> - Madame VER. 68 ans.

Polyarthrite rhumatoïde ayant débuté à l'âge de 56 ans et ayant été soumise à diverses thérapeutiques corticoïdes, sels d'or,

BUTAZOLIDINE, anti-paludéens de synthèse, ASPIRINE, INDOMETHACINE.

Mise aux immunosuppresseurs depuis mars 1968 (CHLORAMBUCIL). Le Waaler Rose est positif.

Effet médiocre cliniquement des immuno-dépresseurs.

Ponction du genou droit en juin 1969.

L'examen par immunofluorescence montre la présence en assez grande quantité de cellules renfermant des grains fluorescents. La répartition punctiforme semble la plus importante.

OBS. 9 - Madame MAR. 44 ans.

Polyarthrite rhumatoïde ayant débuté à l'âge de 13 ans avec trois ans plus tard début des déformations (doigts et orteils). La maladie évolue ensuite par poussées tous les ans. Traitée par ASPIRINE.

En 1967 mise à l'INDOCID et au SOLUPRED.

En 1969, apparition d'un cancer du sein traité par ovariectomie et Halstedt Arrêt de tout médicament anti-inflammatoire pendant deux mois avec reprise des phénomènes inflammatoires articulaires. Mise alors sous immuno-dépresseurs (CHLORAMBUCIL puis CYCLOPHOSPHAMIDE).

Trois mois après le début de cette nouvelle thérapeutique, ponction du genou droit.

L'examen par immuno-fluorescence va montrer la présence de très rares cellules contenant des inclusions fluorescentes sur une lame renfermant peu de cellules. Ces très rares corps fluorescents semblent prendre plus particulièrement une disposition diffuse à petits grains.

OBS. 10 - Monsieur MOR. 44 ans.

Mai 1969 : uréthrite qui dure 15 jours.

Juin 1969 : atteinte fluxionnaire de la cheville droite et presque en même temps du genou droit. Cinq jours après, apparition d'une conjonctivite. Le tout dans un climat fébrile.

V.S. 125. Leucocytes sanguins : 9 600. Radiographies normales.

Ponction du genou droit : 30 700 cellules/mm3

94 % de polynucléaires

3 % de lymphocytes

Protides 48 g

Pas de cristaux.

Résultats ultérieurs :

Absence d'inclusions dans le prélèvement uréthral

Séro Malte négatif

Waaler Rose positif à 1/32è

Latex douteux

Pas de germe dans le liquide du genou.

Anticorps antinucléaires et cellules de Hargraves négat.

Sous traitement associant TETRACYCLINE, INDOMETHACINE, ASPIRINE et infiltrations locales se produit une amélioration clinique nette avec disparition de l'écoulement uréthral, diminution de la V.S. à 21.

Il s'agit donc probablement d'un syndrome de Fiessinger Leroy Reiter.

Examen du liquide articulaire de juin 1969 : il n'y a pas de grains fluorescents ou ils sont extrêmement rares sur une quantité importante de cellules leucocytaires.

<u>OBS. 11</u> - Madame GAU, 73 ans.

Septembre 1969 : gonalgie droite de type mécanique, ayant débuté en réalité 10 ans auparavant, exacerbée.

Rayon de marche : 500 mètres.

Premières radiographies du genou datent de mars 1969 : on parle d'arthrose.

Malade obèse, hypertendue.

Arthrose fémoro-patellaire avec corps étrangers.

V.S. 17, uricémie 83 mg/l, glycémie 1,10 g/l.

Octobre 1969, ponction du genou droit ramène cinq cent-

mètres bubes d'un liquide visqueux :

4 éléments nucléés/mm3

32 g de protides.

Il s'agit donc d'une gonarthrose.

Examen par immunofluorescence : cet examen montre un liquide très pauvre en cellules et qui ne contient aucune inclusion cellulaire fluorescente.

OBS. 12 - Madame GIR. 49 ans.

Polyarthrite rhumatoïde ayant débuté en 1960 par une atteinte inflammatoire des chevilles. Traitée par QUINERCYL et ALLOCHRYSINE. Malgré cette thérapeutique l'atteinte extensive est inéxorable : atteinte des coudes, des épaules, des genoux et de la colonne cervicale.

Le Waaler Rose et le Latex sont positifs.

Mise au CHLORAMBUCIL en juillet 1969.

Examen du liquide du genou par immuno-fluorescence en août 1969 : cet examen montre l'absence quasi totale de grains fluorescents.

OBS. 13 - Monsieur DEL. 58 ans.

Polyarthrite rhumatoïde ayant débuté en 1950 par une pol arthrite aiguë fluxionnaire et fébrile.

Traitée par corticothérapie continue de 1953 à 1969 plus radiothérapie anti-inflammatoire sur les hanches par plusieurs séries de 1951 à 1954.

Traitée à partir de 1968 par CORTANCYL + INDOCID + infi trations locales. Le Waaler Rose est positif.

Ponction genou novembre 1969. Macroscopiquement le liqui de est inflammatoire. L'examen du liquide par immunofluorescence montre l'existence d'une petite quantité de cellules mais il n'y a pas d'inclusions fluorescentes.

OBS. 14 - Madame LAN. 61 ans.

Polyarthrite rhumatoïde ayant débuté à l'âge de 40 ans par une atteinte douloureuse et fluxionnaire des poignets puis des coudes.

Soignée par corticoïdes et ASPIRINE puis sels d'or et anti-paludéens de synthèse et à nouveau des corticoïdes.

1967 : atteinte de la hanche gauche avec liquide inflammatoire retiré par ponction.

1968 : arthrodèse de la hanche gauche avec surinfection (staphylocoque puis pyocyanique).

Janvier 1969 : mise au CHLORAMBUCIL

Novembre 1969 : ponction genou : il existe un nombre modéré de cellules leucocytaires dont une grande partie contient des inclusions fluorescentes soit grosses et en faible quantité, soit plus petites et plus nombreuses.

OBS. 15 - Madame AVA. 31 ans.

Polyarthrite rhumatoïde ayant début à l'âge de 26 ans, par une atteinte fluxionnaire des poignets, traitée d'abord comme un rhumatisme articulaire aigu puis par corticothérapie seule pendant trois ans. A ensuite abandonné puis repris cette thérapeutique. A fait des séries d'acupuncture.

Hospitalisée en urgence en 1969 avec un syndrome d'anémie aiguë avec hémorragie gastrique, dans un tableau de P.C.E. très sévère ; flexion des genoux et des hanches, vitesse de sédimentation supérieure à 100 mm à la 1ère heure, une sérologie négative. Par ailleurs, coxite très évoluée bilatérale, décalcification de type ostéomalacique.

Examen du liquide articulaire du coude en juin 1970.

La lame est remplie de cellules contenant dans leur cytoplasme de nombreuses images claires, rondes, représentant l'image en négatif du noyau. La fluorescence se trouve dans pratiquement toutes les cellules ; il s'agit en général d'une fluorescence diffuse à tout le cytoplasme sur laquelle ressortent des grains

fluoresc nts bien isolés et nets et de nombre variable.

OBS. 16 - Madame MAG. 67 ans.

Polyarthrite chronique évolutive ayant débuté il y a une quinzaine d'année environ traitée par corticothérapie. Affection très inflammatoire et évolutive à laquelle s'associait une hernie hiatale réduisant de façon nette la prise de médicaments.

1970, apparition d'une lésion cervicale : luxation C1-C2. Tentative de traitement par les immuno-dépresseurs. CHLORAMBUCIL en juin 1970 : échec.

Examen du liquide articulaire du poignet en août 1969.

Liquide macroscopiquement visqueux, sirupeux.

Il n'y a pratiquement pas de cellules sur les lames et l'on ne retrouve pas d'inclusions fluorescentes.

Juin 1970 : liquide de ponction du genou gauche : on trouve sur la lame de très nombreux polynucléaires contenant une fluorescence tantôt diffuse punctiforme située entre les lobes nucléaires tantôt clairsemée dans le ytoplasme : grains nets, brillants, séparés les uns des autres, en assez grande quantité.

De temps en temps, mais plus rarement, on retrouve seulement un ou deux grains fluorescents à une extrêmité de la cellule.

Rarement l'on a pu noter la présence d'une cellule mononucléée contenant un gros noyau et une mince bande de cytoplasme rendue fluorescente de façon homogène.

Telles sont donc nos observations. Le tableau VII les résume :

Tableau VII

	Nombre de cas	Nombre examens	Immunofluorescence positive	Immunofluorescence négative	
PR	11	16	11	5	68 % de cas positifs
Arthrose	3	3	0	3	
Chondro-calcinose	1	1	0	1	
FLR	1	1	0	1	

Parmi les 11 cas positifs de polyarthrite rhumatoïde, sept fois la fluorescence touchait un nombre important de cellules et quatre fois un nombre restreint de leucocytes. Trois cas parmi ces quatre résultats faiblement positifs étaient soumis à un traitement de fond par les immuno-dépresseurs.

De même trois cas parmi les cinq résultats négatifs étaient soumis à cette même thérapeutique : peut-être y a-t-il une relation de cause à effet ? mais l'étude est trop restreinte pour être valable.

Ce qu'il faut retenir c'est que dans notre étude 68 % de polyarthrites rhumatoïdes présentent des inclusions fluorescentes qui ne sont pas retrouvées dans les quelques cas d'arthrose de Fiessinger Leroy Reiter et de chondro-calcinose que nous avons observés.

C - Etudes bibliographiques

L'étude du liquide articulaire par immunofluorescence a intéressé de nombreux auteurs.

Nous allons étudier d'après les différents travaux effectués :

- la place des inclusions fluorescentes dans différentes maladies
- la morphologie de ces inclusions.

Et nous discuterons ensuite des rapports entre inclusions fluorescentes et sphérules ragocytaires.

1)- Dans quelles maladies trouve-t-on ces inclusions fluorescentes ?

- RAWSON, ABELSON et HOLLANDER (17) ont fait une étude assez approfondie en 1965. Voici leur résultats (tableau VIII) :

Tableau VIII

	Fluorescence Positive	Négative	Douteuse	Total des cas
PR	18	6	5	29
Still	7	1	0	8
Sp A	1	0	0	1
Rh. psoriasique	2	0	0	2
RAA	1	0	0	1
Arthrose	2	15	1	18
Arthrite infectieuse	0	4	0	4
Goutte	2	3	0	5
pseudo-goutte	0	1	0	1

Pour eux, donc, la présence d'inclusions fluorescente est notée dans la majorité des cas de polyarthrite rhumatoïde et de ses variantes (maladie de Still, rhumatisme psoriasique, spondylarthrite ankylosante et rhumatisme articulaire aigu). L'examen est négatif dans les liquides infectieux et dans l'arthrose ; dans la goutte il a été trouvé une minorité de cas positifs.

En pourcentage, plus des trois quarts des liquides de poly arhtrite rhumatoïde et de ses variantes donnent une réponse positive tandis que parmi les liquides d'autres types, seulement 12 % donnent une réponse positive.

- DELBARRE et Collaborateurs (10) ont pratiqué les mêmes expériences sur 82 malades (106 examens) en essayant de faire une comparaison entre les anti gamma M et les anti gamma G globulines. Ils n'ont, eux, jamais obtenu de fixation des anti sérums sur les ragocytes dans le syndrome de Fiessinger Leroy Reiter (9 cas), de BEHCET (2 cas), dans la spondylarthrite ankylosante (5 cas) ni sur des leucocytes normaux.

Les anti sérums anti gamma M et anti gamma G globulines ne se fixent que dans les cas de la maladie rhumatoïde, du rhumatisme lupique et de la maladie de Kussmaul mais dans ces deux derniers cas, ils n'ont étudié qu'un seul malade (fixation de l'anti-gamma G mais pas de l'anti gamma M).

Donc, pour eux, la positivité ne se retrouve pratiquement que dans la maladie rhumatoïde.

. dans la maladie rhumatoïde avec Waaler Rose positif, les réactions négatives sont l'exception et la fixation des anticorps fluorescents est la règle (71 % des cas) ;

Surtout fixation du sérum anti gamma M globuline rarement réaction avec l'anti gamma G. ;

. dans la maladie rhumatoïde avec Waaler Rose négatif, la réaction avec les anti sérums est plus rare (34 %).

La fixation des anti gamma M globulines est ici encore la plus fréquente (21 % contre 4 % avec l'anti gamma G globuline).

- MITROVIC, SOLNICA et DE SEZE (12) ont étudié dans un premier temps 18 liquides articulaires. Voici leurs résultats détaillés (Tableau IX) :

Tableau IX

	Ragocytes pour 100 leucocytes	Cellules contenant des gamma M glob.	Cellules contenant des gamma G glob.
n° 1 PR	56 %	5 %	35 %
n° 2 PR	24 %	45 %	15 %
n° 3 PR	60 %	85 %	90 %
n° 4 PR	78 %	70 %	60 %
n° 5 PR + LED	51 %	80 %	20 %
n° 6 PR juvénile séro +	51 %	54 %	75 %
n° 7 PR juvénile séro -	31 %	50 %	50 %
n° 8 PR séro - + LED	38 %	5 %	5 %
n° 9 PR séro - + LED	74 %	20 %	65 %
n° 10 PR séro -	36 %	0 %	35 %
n° 11 PR séro -	49 %	60 %	0 %
n° 12 PR séro -	26 %	40 %	15 %
n° 13 SpA après FLR	22 %	0 %	40 %
n° 14 SpA	35 %	0 %	46 %
n° 15 SpA	21 %	0 %	0 %
n° 16 FLR	37 %	0 %	75 %
n° 17 RAA	30 %	0 %	0 %
n° 18 hydarthrose intermittente	6 %	0 %	0 %

Que conclure de tous ces chiffres :

Grosso modo

- 17 des 18 cas présentés ont des ragocytes. Seul le dernier cas avec 6 % de ragocytes est à la limite.

- tous les maladies qui n'ont pas une polyarthrite typique ou bien ne donnent pas de réaction avec les anti-gammaglobulines dans leurs cellules liquidiennes, ou, si elles en donnent le font uniquement avec les anti-gamma G.

- les polyarthrites typiques séro-positives répondent toutes aux anti-globulines des deux types avec petite prédominance aux antigamma M.

- les polyarthrites moins typiques donnent des résultats moins purs.

- Ces mêmes auteurs ont dans un deux temps complété leurs travaux (tableau X) :

Tableau X

	Nombre de cas	Nombre de cas ayant des inclusions Ig G	Ig M
PR séro +	24	24	23
PR séro -	10	9	10
L E D	1	1	1
Monoarthrite séro-négative	3	3	1
Sp A	3	2	0
Goutte	2	0	0
F L R	1	1	0
R A A	1	0	0
Arthrite septique	1	1	0

Ces résultats confirment les conclusions citées plus haut à savoir que les inclusions d'immuno-globulines Ig M sont quasi constantes dans les polyarthrites séro-positives, constantes dans les polyarthrites séro-négatives.

Dans 12 affections d'autre nature, elles n'ont été retrouvées que dans le cas de lupus érythémateux disséminé et dans un cas de mono-arthrite.

2)- Morphologie des inclusions.

- RAWSON, ABELSON et HOLLANDER (17) indiquent que la fluorescence apparaît principalement dans les parties périphériques du cytoplasme ; dans la plupart des cas elle est focalisée mais, de temps en temps, une cellule est fluorescente entièrement, de façon diffuse.

Habituellement, seulement une partie du nombre total des cellules rend compte d'une réaction positive.

- DELBARRE et Collaborateurs (10) ne donnent que peu de détails mais ilsprécisent que ces sphérules fluorescentes ont la taille, la situation et la forme des sphérules ragocytaires.

- Pour BARNHART, il existerait deux type de fluorescence :

. soit des inclusions réparties de façon diffuse dans le cytoplasme ;

. soit un aspect fluorescent diffus de la cellule.

Pour lui, lors d'une réaction positive avec les antiglobulines gamma M, c'est le type d'inclusions dispersées qui prédomine, tandis que lors d'une réaction positive avec l'antigamma G globuline, se serait le type diffus qui prédominerait.

- SOLNICA, KAHN et DE SEZE (19) trouvent, eux, trois types possibles de fluorescence :

. fluorescence cytoplasmique diffuse homogène avec parfois l'empreinte en négatif du noyau, Cet aspect intéresse-

rait tous leurs liquides étudiés mais pas tous les leucocytes.
Sa persistance après blocage par l'immuno sérum non marqué suggèrerait qu'il s'agit d'un aspect non spécifique.

. fluorescence focale sous forme de granules intra-cytoplasmique dont la taille et la forme rappelleraient celles des inclusions ragocytaires. Ces granules fluorescents disparaissent après "blocage" par l'immuno-sérum non marqué.

. Fluorescence nucléaire retrouvée trois fois dans
* un lupus érythémateux disséminé
* une polyarthrite rhumatoïde séro-positive
* une monoarthrite

Elle traduit peut-être la présence d'anticorps anti-nucléaires associés.

3)- Rapports entre inclusions fluorescentes et sphérules ragocytaires.

- Les premiers, RAWSON et HOLLANDER (17) ont dit qu'il leur était très difficile sinon impossible d'identifier définitivement les structures fluorescentes avec les granules intra-cytoplasmiques vus en microscopie optique.

- Par la suite, DELBARRE (10) corrobore cette opinion car
. le nombre des cellules fluorescentes est inférieur à celui des ragocytes.

. La correspondance entre ces deux sortes d'inclusions n'est qu'approximative : on peut voir, d'après eux, dans une même cellule, en passant de la lumière ordinaire à la lumière ultra-violette côte à côte des sphérules ragocytaires et des amas fluorescents.

- Pour SOLNICA, KAHN et DE SEZE (19), enfin, il n'existe aucune coïncidence entre le pourcentage des leucocytes contenant en microscopie optique des inclusions ragocytaires et celui des leucocytes contenant lors de l'examen par immunofluorescence, des inclusions d'immunoglobulines Ig M ou Ig G.

L'examen d'un même leucocyte, en lumière ordinaire puis en lumière ultra-violette, précise que s'il peut exister une coïncidence topographique entre les deux types d'inclusions, celle-ci est loin d'être constante.

4)- Marquage spécifique par les anti-sérums gamma M et gamma G.

Nous en avons déjà parlé plus haut ; rappelons simplement que, pour les auteurs (SOLNICA et DE SEZE, DELBARRE et BARNHARDT) les granules d'immuno-globulines Ig M intra-cytoplasmiques seraient plus spécifiques des polyarthrites d'allure rhumatoïde séro-positive ou séro-négative.

Ce point plaiderait d'ailleurs en faveur de l'unicité de ces deux types de polyarthrite rhumatoïde ;

Par contre, les immunoglobulines Ig G sembleraient dépourvues de spécificité car elles se rencontreraient dans de nombreuses affections inflammatoires et peut-être infectieuses.

V - Etudes cytochimiques

Tous les faits précédemment décrits, à savoir en particulier la non concordance possible entre inclusions fluorescentes et granules ragocytaires ont fait pousser les recherches dans d'autres directions et tout d'abord dans des études cytochimiques complexes.

1)- Les premiers travaux sont à mettre à l'actif de DELBARRE (5) et de ses collaborateurs qui ont, dès 1965, centrifugé des liquides articulaires et inclus les culots dans la paraffine en vue de différentes colorations :

. les réactions au noir Soudan et au rouge Scarlach sont discrètement positives à la périphérie des sphérules, suggérant ainsi qu'elles sont entourées par un film de lipides.

. Les réactions au carmin de Best, au P.A.S., au bleu Alcyan, au rouge Congo, à l'Acridine orange sont négatives : il n'y a donc ni glucides ni muco-polysaccharides, ni substances amyloïdes, ni nucléo-protéines (ADN ou ARN).

Toutes ces réactions ont été pratiquées sur des liquides rhumatoïdes surtout.

2)- LOPEZ-VAZ et COIMBRA(11), au Portugal, se sont également attachés à ce problème. Ils ont étudié dix liquides articulaires (six polyarthrites rhumatoïdes, une polyarthrite au décours d'une colite ulcéreuse, une polyarthrite mélassée). Ils ont trouvé des ragocytes dans huit cas, sans dire lesquels avec une proportion de 25 à 50 % des cellules totales. Ils ont ensuite étudié le contenu des inclusions par des colorations pséciales : P.A.S., Hématoxyline, Phospho-tungstique, bleu de Tolhidine, noir Soudan B, Hémateine acide. Ils ont aussi étudié l'activité phosphatasique acide (à la recherche d'une activité lysozomiale).

Leurs résultats sont précis : ils n'ont jamais pu colorer

les inclusions par les colorants métachromatiques, l'hématoxyline phosphotungstique (pour la fibrine). De même, ils n'ont pu montrer l'existence de mucopolysaccharides acides.

Après coloration selon la méthode de FEULGEN (recherche des acides nucléiques) et par le P.A.S., ils ont observé dans les neutrophiles et les mononucléaires des éléments qui paraissent correspondre aux inclusions observées à l'état frais.

Sur certaines préparations, ils ont constaté des inclusions nettement soudanophiles, ce caractère s'estompant ou disparaissant après traitement par l'eau oxygénée ou le chloroforme méthanol.

Un autre fait intéressant découvert par les auteurs est la possibilité de retrouver, sur certaines préparations, dans le cytoplasme des inclusions P.A.S. positives disposées à la périphérie des cellules remplissant parfois quelques pseudopodes, disparaissant sous l'action de la salive. Elles correspondraient donc à la présence de glycogène.

Quant à l'activité phosphatasique acide, les auteurs ont toujours obtenu dans les polynucléaires neutrophiles des images de précipitation circonscrites soit sous forme de granulations volumineuses isolées soit sous forme de granules plus petites (deux à quatre par ragocyte).

3)- MITROVIC, SOLNICA et DE SEZE (12) ont étudié, eux, 33 liquides synoviaux inflammatoires.

Dans leurs résultats des granulations peuvent se diviser en trois catégories.

* les granulations lipidiques constituées essentiellement de lipides soudanophiles
  - le plus souvent homogènes
  - de taille très variable allant de 0,2 à 2 microns
  - quelquefois amas granuleux, irréguliers, cloisonnés par des espaces clairs

. ou encore, pourtour soudanophile, épais avec un centre clair, se rapprochant du type suivant ;

* Les vacuoles : en fait, elles semblent très rares. Elles se colorent in vivo par le rouge neutre, s'observent dans certains macrophages,les polynucléaires n'en contiennent qu'exceptionnellement.

* Le troisième type est vraisemblablement d'origine nucléaire : ces granulations se colorent par la méthode de FEULGEN ou par le GIEMSA et sont assez rares.

Les techniques de recherche des acides aminés et des protéines se sont révélées peu concluantes.

Il y a donc une richesse importante en lipides et il existe une assez bonne corrélation entre le pourcentage des inclusions ragocytaires et celui des inclusions lipidiques du même liquide. Cependant, la comparaison des nombres moyens fait ressortir des chiffres plus élevés pour les inclusions ragocytaires ce qui suppose l'existence d'autres inclusions que lipidiques.

VI - Etudes en microscopie électronique

1)- ZUCKER FRANKLIN (25) en 1966 décrit certaines substances intra et extra-cellulaires dans des liquides synoviaux de polyarthrite rhumatoïde.

Les cellules leucocytaires sont entourées de matériel précipité amorphe (substance de type fibrinoïde) et de nombreux débris cellulaires.

Il existe en outre, dans le liquide, en dehors des cellules, de grosses structures globulaires de 0,5 à 5 microns de diamètre, d'apparence homogène grises, entourées d'une fine membrane "Gray Globular Structures".

Par contraste, avec les neutrophiles circulants, les cellules du liquide synovial contiennent des vacuoles renfermant un ou plusieurs éléments observés dans le milieux environnant. Ces organelles, qui sont donc vues libres dans le liquide, sont aussi observées alors qu'elles sont entourées par des pseudopodes cellulaires ce qui semble suggérer qu'elles sont susceptibles d'être englobées dans la cellule.

Ainsi, il est probable que ces vacuoles contiennent du matériel phagocyté : il s'agirait donc de phagozomes.

La fusion entre membranes lysozomiales et phagosomiales entraîne la formation de phagolysozomes_

Les substances globulaires grises trouvées dans le milieu environnant sont aussi observées à l'intérieur des cellules : il est parfois évident qu'elles ont été phagocytées car elles peuvent être mélangées dans les vacuoles à d'autres débris cellulaires ingérés.

Dans d'autres cellules, les structures précitées appa-

raissent comme des inclusions cytoplasmiques entourées d'une fine membrane avec concentration importante de particules de glycogène à leur voisinage.

Le contenu des vacuoles phagocytaires des macrophages ne diffère guère de celui trouvé dans les neutrophiles.

2)- DELBARRE et collaborateurs (5) ont l'impressions que certaines sphérules sont riches en lipides et ils ont trouvé également des images de type myélinique.

3)- MITROVIC, SOLNICA et DE SEZE (12) ont dévrit également plusieurs types d'inclusions susceptibles d'être identifiées aux inclusions ragocytaires.

- les inclusions homogènes pâles qui semblent toujours présentes et dont le nombre semble en corrélation étroite avec la richesse en ragocytes ; arrondies, de contour régulier, limitées par une membrane simple souvent difficiles à identifier.
Leur diamètre moyen est de 1 micron.
Elles correspondent aux "Gray Globular Structures".

- Les lysophagosomes : de fréquence quasi constante, petits dans les polynucléaires (0,5 à 1 micron), plus volumineux dans les macrophages (deux à trois microns). Leur contenu est difficile à identifier mais il semble qu'en plus des granules lysozomiaux ils contiennent des matériaux phagocytés variés : fibrine, débris cellulaires mais aussi une substance dense aux élections de structure fibrillaire non identifiable.

- Les inclusions nucléaires : elles sont assez rares leur structure n'est pas altérée dans certains cas, dans d'autres cas, elles peuvent être mortifiées par le processus de digestion cellulaire.

- Les vacuoles cytoplasmiques : rares dans les polynucléaires, fréquentes dans les cellules de type macrophagique.

La microscopie électronique n'a pas permis d'identifier des immunoglobulines en tant qu'inclusions individualisées.

4)- LOPEZ-VAZ et COIMBRA (11) décrivent dans les ragocytes les particularités suivantes :

- plus grande quantité de glycogène réparti dans tout le cytoplasme ;

- présence de nombreuses vésicules de pinocytose ;

- présence d'inclusions de trois types morphologiques

. Certaines ont un aspect homogène, lipidique, de densité faible avec limites estompées ;

. d'autres contiennent un matériel plus dense légèrement granulaire ;

. certaines inclusions enfin contiennent des débris intra ou extra-cellulaires. Ces inclusions complexes peuvent être considérées comme des lysozomes secondaires.

5)- Pour BLOCH-MICHEL, BENOIST, RIPAULT et BINET (3)(4), enfin, les ragocytes ont l'aspect de macrocytes et de polynucléaires avec des noyaux irréguliers ; dans le cytoplasme, on observe des inclusions de forme variable soit en batonnet soit cylindrique. Elles sont bien limitées par une membrane. Leur contenu est soit très dense aux électrons, soit au contraire vide.

Leur aspect morphologique ressemble à celui des lysozomes, surtout pour les granulations à contenu dense.

Il est impossible sur ces images statiques de préciser leur fonction.

VII - Conclusions partielles

Que retenir de toutes ces études assez spécialisées ?

1)- par destruction des ragocytes par ultrasons, certains auteurs (18) (2) ont pu montrer l'existence de facteur rhumatoïde dans le produit de rupture des cellules ; d'autres auteurs n'ont pas retrouvé ces faits (5).

2)- l'on a pu reproduire expérimentalement des ragocytes par mise en contact de leucocytes et de complexes antigènes-anticorps (5).

3)- l'injection de gamma-globuline 7 S dans une articulation n'entraîne une arthrite que chez des polyarthritiques à qui on a injecté des gamma-globulines autologues (18).

4)- par l'utilisation des sérums antiglobulines marqués, l'on peut trouver une fluorescence positive dans la majorité des cas de polyarthrite rhumatoïde. Les sérums anti gamma G globulines se fixent sur les ragocytes dans de nombreuses maladies, les sérums anti gamma M de façon plus spécifique sur les ragocytes de la polyarthrite rhumatoïde (17) (10) (12).

5)- par études cytochimiques l'on a trouvé des inclusions qui répondraient à certaines colorations : lipides,glycogènes, A.D.N... et d'autres inclusions s'apparentant aux lysozomes et d'autres enfin correspondraient à des complexes immunologiques (5) (11) (12).

6)- par microscopie électronique, l'on a trouvé plusieurs sortes d'inclusions : (25)(12)(11)(3)

. inclusions homogènes pâles "gray globular structures"(lipides)

. inclusions nucléaires

. vacuoles cytoplasmiques fréquentes dans les macrophages

. lysophagosomes contenant des matériaux phagocytes variables.

Le cytoplasme de ces ragocytes contient en outre une grande quantité de glycogène.

CHAPITRE IV

QU'EN CONCLURE ? ESSAI PATHOGENIQUE

La découverte des "RA Cells" par HOLLANDER, et des ragocytes par DELBARRE a donné beaucoup d'espoirs tant sur le plan diagnostique que pathogénique.

Nous étudierons plus loin l'intérêt diagnostic ; quant au problème de pathogénie nous allons brièvement l'aborder.

L'hypothèse de travail de HOLLANDER qui consiste à dire que les inclusions ragocytaires sont le fruit d'un complexe comprenant le facteur rhumatoïde et des gamma-globulines modifiées, a ét[é] le premier jalon de cet espoir pathogénique.

I - Cette conception a été soutenue par plusieurs faits :

1°- PARKER et SCHMIDT ont obtenu in vitro l'apparition d'inclusions leucocytaires en mettant en présence du sérum rhumatoïde à sérologie positive avec des gamma globulines chauffées rendues fluorescentes. Ils ont obtenu, ainsi, des complexes fluorescents qui ont été avidement phagocytés lorsqu'ils étaient placés au contact des leucocytes humains (sanguins) 22 à 94 % des leucocytes polynucléaires contenaient des particules fluorescentes (14).

Sur des sérums rhumatoïdes ils ont obtenu des résultats positifs dans environ 61 % des cas, sur des sérums normaux ils n'ont obtenu que 5 % de cas positifs.

La différence était donc nette.

De même les expériences faites avec des gamma-globulines incubées sans sérum ou incubées avec des albumines donnaient un pourcentage de phagocytose très faible (moins de 8 %).

2°- DELBARRE et collaborateurs (5) ont essayé, in vitro, de reproduire la ragocytose par mise en contact de leucocytes

isolés de sang humain avec certains produits : ils n'ont pu reproduire cette ragocytose qu'en mettant au contact des leucocytes, des complexes réalisés in vitro avec un antigène et son anticorps.

3°- L'injection de gamma globulines dans une articulation non inflammatoire d'une polyarthrite rhumatoïde (c'est-à-dire, dans l'hypothèse de HOLLANDER du facteur rhumatoïde) entraîne une arthrite aiguë et l'apparition de ragocytes à l'unique condition qu'il s'agisse de gammaglobulines du propre sujet (18).

4°- La constatation de la présence de facteur rhumatoïde dans le liquide articulaire de polyarthrite rhumatoïde a été possible : en particulier, lorsque le taux d'agglutination du plasma est élevé, l'on retrouve toujours une sérologie positive dans le liquide, plus rarement on peut trouver une sérologie positive dans le liquide et négative dans le plasma (3) (13) (15).

Par contre, il n'existe pas de corrélation nette entre le taux de la sérologie et le pourcentage en ragocytes du liquide (15).

5°- Les méthodes immunofluorescentes ont prouvé la présence, dans les ragocytes, d'inclusions contenant des gamma M et des gamma G globulines, la première étant probablement le facteur rhumatoïde. (10) (12) (17)

6°- La destruction des ragocytes par un traitement par ultra-sons semble libérer du facteur rhumatoïde détecté par test au Latex globuline.(8) (2)

II - Mais cette conception est cependant en partie battue en brèche par d'autres constatations.

1°- Le fait de découvrir une ragocytose dans certaines

maladies qui n'ont pas fait la preuve d'un processus immunologique (rhumatisme psoriasique, spondylarthrite ankylosante) ou qui sont notoirement connues comme n'ayant aucun rapport avec ces mêmes processus (syndrome de Fiessinger Leroy Reiter), certaines gouttes, certaines arthrites infectieuses...) va à l'encontre d'une telle hypothèse bien qu'il ait été constaté en général que dans ces cas, la ragocytose est plus modérée et moins fréquente.

2°- Le fait de réaliser in vitro la ragocytose par la mise en contact des leucocytes et de divers complexes antigènes-anticorps montre qu'il s'agit d'un phénomène général et non propre à la polyarthrite rhumatoïde comme le pensait HOLLANDER (5).

3°- Les méthodes immunofluorescentes n'ont pas permis et loin de là même, de conclure à une équivalence entre sphérules ragocytaires et inclusions fluorescentes, qui, par ailleurs, semblent se retrouver dans un plus faible pourcentage de cellules que les premières (10) (17) (19).

4°- La recherche du facteur rhumatoïde après traitement par ultra-sons est délicate et les résultats positifs n'ont pas été retrouvés par tous les auteurs (5).

5°- Le microscopie électronique, enfin, n'a pas permis de mettre en évidence des immunoglobulines en tant qu'inclusions individualisées (12) ; disons cependant qu'elles pourraient être situées dans les phagosomes, coexistant avec d'autres matériaux phagocytés, y parvenant soit par un processus de phagocytose spécifique, soit passivement lors de la phagocytose d'autres matériaux.

Car la microscopie électronique et la cytochimie ont permis de prouver l'existence de différents matériaux dans plusieurs sortes d'inclusions :

. richesse importante en lipides
. présence de glycogène, de matériaux nucléaires
. matériel phagocyté sous forme de phagosomes, de lysophagosomes.

En définitive, les ragocytes du liquide articulaire seraient des leucocytes qui contiendraient des inclusions spéciales renfermant différents matériaux :

les plus importants de ces matériaux seraient des complexes antigènes-anticorps variés dont les plus caractéristiques seraient des complexes formés de facteurs rhumatoïdes et de gamma-globulines aggrégées, presque spécifiques de la polyarthrite rhumatoïde, mais très difficiles à prouver ; à ces inclusions spéciales de la polyarthrite rhumatoïde ou isolées dans d'autres affections pourraient s'ajouter d'autres produits :

. lipides
. glycogène
. fibrine
. matériaux nucléaires
. lysozomes

Un po nt reste à préciser : que sont ces lysozomes et ces phagosomes que nous venon s de citer : elles ont été suspectées hypothétiquement par DE DUVE en 1955, et découvertes par la suite par NOVIKOFF. Situées au côté des mitochondries, colorées de façon spécifique par des colorations qui n'agissent que sur la phosphatase acide, elles constituent de véritables sacs d'enzymes : enzymes hydrolytiques (hydrolases) (23).

En principe elles sont bien limitées, isolées du reste de la cellule par une membrane imperméable formée de lipoprotéines.

Lors d'une atteinte cellulaire grave quelconque, un passage des hydrolases peut cependant se produire entraînant l'autodigestion de la cellule.

Lors des phénomènes de phagocytose, le produit phagocyté est inclus dans les vacuoles phagocytaires ; il va alors se produire une fusion entre ces vacuoles phagocytaires et les lysozomes, réalisant un phagozome, les enzymes hydrolytiques étant ainsi mises en contact avec le matériel ingéré, il n'y a alors aucune atteinte cellulaire.

Dans la maladie rhumatoïde, enfin, il semble que la présence de complexe antigène-anticorps dans les ragocytes entraîne une hyperactivité lysozomiale et une diminution du pouvoir de barrière de la membrane ce qui expliquerait en partie par libération de nouveaux matériaux dans le milieu ambiant la continuité du processus inflammatoire.

C H A P I T R E   V

PLACE DE LA RAGOCYTOSE DANS L'EXAMEN D'UN LIQUIDE ARTICULAIRE

Ainsi, à la suite de tout ce que nous venons de dire, se trouve posé le problème de la place de la ragocytose dans l'examen systématique du liquide articulaire.

Nous pouvons dire de suite qu'il s'agit d'une place importante, certes, mais non spécifique dans la recherche d'une poly arthrite rhumatoïde.

Nous savons qu'elle ne s'observe pratiquement pas dans les rhumatismes dégénératifs, qu'elle se retrouve dans les processus inflammatoires et infectieux à des taux variables (plus forts dans la polyarthrite rhumatoïde) et à un taux beaucoup plus faible dans les arthropathies microcristallines.

Mais un fait nous paraît plus important que la découverte de la ragocytose elle-même et c'est l'étude des cellules du liquide articulaire par immunofluorescence qui nous en a fourni le sujet.

1°- d'abord parce que dans les rhumatismes dégénératifs en plus de la quasi constante absence de ragocytes, la recherche des immuno globulines Ig M et Ig G s'avère négative dans les rares cellules rencontrées.

2°- parce que , ensuite, dans l'étude plus précise des rhumatismes inflammatoires et infectieux, si la recherche d'immunoglobulines Ig G est souvent positive, par contre les immunoglobulines Ig M semblent ne se rencontrer que lors de la polyarthrite rhumatoïde ; mais leur découverte n'est pas constante et on en a trouvé également dans quelques collagénoses.

Ce point, à notre avis, est fondamental dans l'étude de la maladie rhumatoïde non seulement à un stade avancé, mais ce qui est également intéressant dans les stades de début :

Il n'empêche qu'il faut bien garder à l'esprit le fait qu'il n'y a actuellement aucun examen de laboratoire spécifique absolu en faveur de la polyarthrite rhumatoïde ; ce point, d'ailleurs, milite en faveur de la recherche de ces immunoglobulines pour avoir en définitive un argument de plus en faveur de cette maladie.

Depuis les premiers travaux de ROPES et BAUER, nous considérons pouvoir compléter le tableau biologique des affections à manifestations articulaires de la façon suivante : (tableau XI)

Tableau XI

Liquides	Numération formule	Protides	Facteur Rhumatoïde	Ragocytes	Fluorescence anti-gamma G	Fluorescence anti-gamma M	cristaux	Divers
Normal	50-200 cell 95 % Mono	10-20 g/l	0	0	0	0	0	
Mécanique	100-500cell 90 % Mono 10 % PI	20-45 g/l	0	0	0	0	0	
PR	3000 cell 70-90 % PN	45-60 g/l	+ / -	+ taux souvent 30 %	++	+	0	
Autres R.I.C.	3000 cell 90 % PI	45-60 g/l	0	+ / -	+ / -	0	0	
Infection	3000 cell 90 % PI	45-60 g/l	0	+ / -	+ / -	0	0	Germes
F.L.R.	3000 cell		0	+ / - taux souvent 30 %	+ / -	0	0	inclusions virales
R.A.A.	500 cell 50 % PN 50 % Mono		0	+ / -	+ / -	0	0	
LED et Collagénoses autres	500 cell 50 % PN 50 % mono		+ / -	+ / -	+ / -	+ /1	0	
Arthropathies micro-cristallines	500 cell 50 % PN 50 % Mono		0	+ / -	+ / -	+ / -	+	

INFLAMMATOIRES

MIXTES

CONCLUSION GENERALE

Nous venons donc, modestement, d'étudier le phénomène de la ragocytose synoviale découvert en premier par HOLLANDER qui a bati dessus une hypothèse de travail très intéressante, et en nous basant sur l'étude sérieuse faite par de nombreux auteurs à ce sujet, nous avons tenté de donner une signification précise à ce phénomène.

Depuis les travaux de ROPES et BAUER, beaucoup de chemin a été parcouru dans le domaine de l'étude du liquide synovial mais il est bien certain qu'il reste encore plus de chemin à faire.

Le ragocyte synovial occupe une place nouvelle dans ces études, place importantes, certes mais qu'il ne faut pas surestimer.

Il semble ressortir de notre étude plusieurs points :

1°- en premier lieu, l'étude globale des ragocytes puis l'étude particulière de ces cellules par l'immuno-fluorescence semble pouvoir aider de façon importante au diagnostic du difficile problème des rhumatismes inflammatoires chroniques, d'abord en éliminant de façon presque formelle les rhumatismes dégénératifs, puis en orientant de façon assez précise le diagnostic vers la découverte d'une polyarthrite rhumatoïde ou d'un autre rhumatisme inflammatoire chronique, selon que l'on retrouve, ou non des inclusions contenant des immunoglobulines Ig M.

2°- ensuite, les termes de ragocytes et de "RA Cell" donnés aux mêmes cellules par les auteurs qui les ont découvertes (DELBARRE et HOLLANDER) peuvent être employés à des fins nosologiques différentes :

- le terme de ragocyte pouvant être donné de façon générale à ces cellules leucocytaires contenant ces inclusions

spéciales, qui se retrouvent dans de nombreuses affections ;

- et le terme de "RA Cell" pouvant servir à désigner parmi ces ragocytes les cellules qui semblent plus spécifiques de la polyarthrite rhumatoïde c'est-à-dire celles qui contiennent dans leurs inclusions des complexes d'immunoglobulines (Ig M - Ig G) (soit facteur rhumatoïde-gammaglobuline).

Cette différenciation n'est pas une simple vue de l'esprit ; elle a un intérêt nosologique certain.

3°- Une étude importante à entreprendre semble être celle qui consiste à étudier ce que deviennent ces cellules particulières lors d'un traitement dit de fond de la polyarthrite rhumatoïde en particulier par les sels d'or, la corticothérapie et les immuno dépresseurs. Nous avons vu dans nos études personnelles qu'il semble y avoir parfois certaines relations. Si cela se vérifiait, cela renforcerait peut-être l'opinion qu'il existe un traitement de fond véritable de cette affection.

4°- Enfin, la découverte d'inclusions consistant en complexes immunoglobuliniques (Ig M - Ig G) aussi bien dans les polyarthrites rhumatoïdes séro-positives que séro-négatives semble bien être en faveur de l'unicité de la maladie.

Nous terminerons ce difficile exposé en insistant sur le fait qu'il existe encore de nombreuses inconnues qui doivent inciter les chercheurs à repenser le problème général de l'inflammation synoviale et de la polyarthrite rhumatoïde en particulier.

Vu et permis d'imprimer
Le Président de L'Université
Paul SABATIER

(1) - AMIGUES
La polyarthrite rhumatoïde. Acquisitions récentes.
. Thèse Toulouse n° 53, année 1970

(2) - Conzalo ASTORGA, Alfred JAY BOLLET
Diagnostic spécificity and possible pathogenic significance of inclusions in synovial leucocytes.
. Arthritis and Rheumatism. Vol. 8, n° 4 1965, 511-523

(3) - H. BLOCH-MICHEL, M. BENOIST, J. RIPAULT
Etude cytologique et immunologique du liquide synovial dans la maladie rhumatoïde.
. Presse médicale 75, n° 13, mars 1967

(4) - H. BLOCH-MICHEL, M.BENOIST, J. RIPAULT, J.L. BINET
Biopsie synoviale, étude cytologique et immunologique du liquide articulaire dans les arthrites rhumatoïdes.
. Société médicale des hôpitaux de Paris 117,n°13, 1305 - 1316

(5) - F. DELBARRE, A. KAHAN, B.AMOR, G. KRASSININE
Etude clinique et expérimentale de la ragocytose synoviale. Intérêt pour le diagnostic et l'étude pathogénique des rhumatismes inflammatoires.
. Path. Biol. 1966. Vol. 14, n° 15-16/17-18, 796-804

(6) - G. GASPARDY, A. MEGYERI
de la phagocytose des cellules de l'exsudat articulaire.
. Revue de rhumatisme n° 6, juin 1965, 354-356

(7) - P. HEMMER, A. GAMP
Ragosyten der synovia bei arthritiden und arthrosen
. Klinischen Beobachtlngen L.F.R. 27-7-8 août 1968
261 - 269

(8) - Joseph LEE HOLLANDER, MD, F.A.C.P., Daniel J. MAC CARTY, JR, M.D., F.A.C.P., Gonzalo ASTORGA, M.D. EDUARDO CASTRO-MURILLO, MD.

Studies on the pathogenesis of rheumatoid joint inflammation. I - the "Ra Cell" and a working hypothesis.

. Annals of Internal Medicine. Vol. 62, n° 2, February 1965. p. 272

(9) - T. DOUGLAS KINSELLA, John BAUM, Moris ZIFF

Light and fluorescent microscopic studies of synovial lining cell suspensions in rheumatoid arthritis and other arthritides.

. American Rheumatism Association Annual Meeting. Année p. 492

(10) - C. KRASSININE, A. KAHAN, B. AMOR, F. DELBARRE

Etude par immunofluorescence des inclusions caractéristiques du ragocyte synovial.

. C.R. Acad. Sc. Paris. T. 263, septembre 1966, série D, 801-803.

(11) - A. LOPEZ-VAZ, Antonio COIMBRA

Etude cytochimique et ultra-microscopique des ragocytes dans les rhumatismes inflammatoires

. Presse Médicale. Octobre 1967, _75, n° 44, 2221-2222

(12) - D. MITROVIC, J. SOLNICA, S. DE SEZE

Cytochimie comparative et ultra-structure des inclusions des liquides synoviaux dans divers rhumatismes inflammatoires.

. Sem. Hop. Paris. Octobre 1967, 2561-2572

(13) - J.B. PAOLAGGI, L. AUQUIER, F. DELBARRE, J.A. LIEVRE, A. RYCKEWAERT, H. PEQUIGNOT.

Quel est l'apport de l'examen du liquide synovial en rhumatologie ?

. Presse Médicale. 76. n° 18, 13 avril 1968, 867-868

(14) - ROBERT L., PARKER and FRANK R. SCHMID
Phagocytosis of particulate complexes of gamma-globulin and rheumatoid facter
. J. Immunology 1962, 88, 519.

(15) - L.M. PATRICOT, G. VIGNON
La ragocytose synoviale
. Rev. Lyonnaise de Méd. Mars 1968, 5 - 10.

(16) - PITET, GUIRAUD, SERRES
La fluorescence : applications en biologie et en médecine
. Rev. Méd. Toulouse 1967, 111, p. 857-861

(17) - ARNOLD, J. RAWSON, NEVA M. ABELSON, Joseph LEE HOLLANDER
Studies on the pathogenesis of rheumatoid joint inflammation.
II - intracytoplasmic particulate complexes in rheumatoid synovial fluids.
. Annals of Internal Medecine Vol. 62, n° 2 February 1965 p. 285.

(18) - RONALD, A. RESTIFO, ANDRE J. LUSSIER, ARNOLD J. RAWSON, John H. ROCKEY, Joseph LEE HOLLANDER
Studies on the pathogenesis of rheumatoid joint inflammation.
III - The experimental production of arthritis by the intra-articular injection of purified 7 S gamma globulin.
. Annals of Internal Medecine Vol. 62, n° 2, February 1965, p. 285

(19) - J. SOLNICA, M.F. KAHN, S. DE SEZE
Etudes immunologiques sur les liquides synoviaux
. Revue de Rhum. 1968, 6, 312-319

(20) - DONALD A. SONES, FREDERIC C. MAC DUFFIE, GENE G. HUNDER.
The clinical significance of the RA Cell.
. Arthritis and Rheumatism. Vol. 11, n° 3, june 1968 p. 400.

(21) - John. H. VAUGHAN, Eugène V. BARNETT, MICHAEL V. SOBEL, RALPH F. JACOY
Intra cytoplasmic inclusions of immunoglobulins in rheumatoid arthritis and other diseases.
. Arthritis and Rheumatism, vol.XI, n°2, part. 1, april 1968, p. 125.

(22) - John H. VAUGHAN, RALPH F. JACOY, PHYLLIS NOELL
Relation of intra cytoplasmic inclusions in joint fluid leukocytes to anti gamma G globulins.
. Arthritis and Rheumatism. Vol XI. n° 2, part. 1, april 1968, p. 135.

(23) - Gerald WEISSMANN
Lysozomes.
. Blood, Vol. 24, n° 5 (november)1964, p. 594.

(24) - Robert F. WILLKENS, Richard V. ANDERSON, BRUCE C. GILLILAND
Response of sensitized rabbits to intra-articular gamma-globulin.
. Arthritis and Rheumatism. Vol. 11, n° 3, june 1968,418.

(25) - DOROTHEA ZUCKER-FRANKLIN
The phagosomes in rheumatoid synovial fluid leukocytes : a light fluorescence, and electron microscope study.
. Arthritis and Rheumatism. Vol. 9, n° 1, 1966 24-36.